

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

PCT/EP 00/08929

10/07/966

**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)



REC'D 19 OCT 2000
WIPO PCT

EPOO /8929

**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung
einer Patentanmeldung**

4

Aktenzeichen:

199 43 853.6

Anmeldestag:

13. September 1999

Anmelder/Inhaber:

Dr. Udo Höller, Königswinter/DE

Bezeichnung:

Bioreaktor zur Fermentierung von festen Stoffen

IPC:

C 12 M, C 02 F

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 19. September 2000
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

[Handwritten signature]
Metzler

A 9161
06/00
EDV-L

Bioreaktor zur Fermentierung von festen Stoffen

Die vorliegende Erfindung betrifft einen Bioreaktor zur Fermentierung fester Stoffe sowie ein entsprechendes Fermentationsverfahren.

Der Umsatz von festen, wasserunlöslichen oder partikulären Substraten in Fermentern birgt eine Vielzahl an Problemen, welche in erster Linie die Belüftung, die Durchmischung und die Nährmedienzugabe betreffen. Wenn der umzusetzende Stoff von verschiedenen Mikroorganismen synergistisch angegriffen werden soll, ist zudem eine gezielte Versorgung des Reaktionsraums mit Nährstoffen und Sauerstoff erforderlich. In großvolumigen Reaktoren lassen sich diese Fermentationen derzeit aufgrund der erschwerten Durchmischung und der damit verbundenen mangelhaften Belüftung und Unterversorgung mit Substraten, nicht realisieren.

Die Durchmischung findet in handelsüblichen Reaktorsystemen durch mechanische Rührsysteme statt. Darüber hinaus beschreibt das US-Patent 4,846,964 ein Fließbett-Bioreaktorsystem zur Umwandlung von Kohle in mikrobiologisch verflüssigte Kohleprodukte, bei dem ein aufstrebender wässriger Strom die Kohlepartikel in Lösung hält. Die vorstehenden Mischmethoden haben den Nachteil, dass bei einer Fermentation von höheren Substratkonzentrationen bzw. Substraten, die zur Verklumpung neigen, eine hinreichende Durchmischung und somit ein hoher Substratumsatz nicht mehr gegeben ist.

Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung bestand nun darin, einen Bioreaktor und ein Fermentationsverfahren zur Verfügung zu stellen, die die Nachteile des Standes der Technik nicht mehr aufweisen, insbesondere die eine hinreichende Durchmischung des zu fermentierenden Materials gewährleisten.

Zur Lösung dienen die Merkmale des Anspruchs 1.

Der Bioreaktor dient zur Fermentierung wasserunlöslicher oder partikulärer Substrate wie z. B. Holz (welches aufgrund seines Ligninanteils nur von bestimmten Mikroorga-

nismen abbaubar ist) hlen (mit dem Ziel, die flüssigen fermentationsprodukte als Ausgangsstoffe für die chemische Industrie oder zur thermischen Nutzung zu verwenden), zur Sanierung von mit Xenobiotika belasteten Böden, zur schnellen Fermentierung von organischen Abfallprodukten, zur biologischen Abwasserreinigung und zur Vorbehandlung von Grundstoffen der chemischen Industrie. Zusätzlich ist der vorgeschlagene Bioreaktor auch als konventioneller Flüssig-/Festphasen-, Festphasen-, Rieselfilm-, "fedbatch" oder Airliftreaktor einsetzbar.

Der vorgeschlagene Bioreaktor erlaubt durch mindestens eine spezielle Düsenanordnung, welche in das zu fermentierende Substrat eingebracht wird und pneumatisch mit Druckgas versorgt wird, erstmals die für Mikroorganismen nötige optimale Belüftung und Durchmischung von festen, wasserunlöslichen oder partikulären Substraten. So wohl die Versorgung der Mikroorganismen mit Luftsauerstoff als auch deren Versorgung mit Nährmedien, Co-Substraten, Vitaminen, Mineralstoffen, Puffern oder Antibiotika verläuft über ein einzelnes pneumatisches Drucksystem. Der Bioreaktor kann in leicht modifizierter Form in jeder beliebigen Größe vom fünf Liter Labormaßstab bis hin zum großindustriellen mehrstelligen Hektoliterbereich genutzt werden. Der vorgeschlagene Bioreaktor 1 kann mit einfachen Veränderungen ebenfalls als konventioneller Flüssig-/Festphasen-, Festphasen-, Rieselfilm-, "fedbatch" oder Airliftreaktor genutzt werden.

Vorzugsweise ist eine erste, sich vertikal erstreckende Düsenanordnung in den Reaktionsraum des Fermentationsbehälters einfahrbar. Die Düsenanordnung besteht aus vertikal in den Fermentationsbehälter hineinragenden Leitungsrohren, die an ihren unteren Enden mit Düsen versehen sind. Auf diese Weise lässt sich das Druckgas bzw. der flüssige bioreaktive Stoff in Bodennähe des Fermentationsbehälters einbringen. Die vertikalen Leitungsrohre können eine unterschiedliche Länge aufweisen und sind aufwechselbar.

Zusätzlich kann eine zweite horizontale Düsenanordnung vorgesehen sein, die aus sich horizontal und zueinander parallel durch den Reaktionsraum erstreckenden, miteinander verbundenen Leitungsrohren besteht. Die Leitungsrohre haben auf ihrer Mantelfläche verteilt angeordnete Düsen.

Die horizontale Düsenanordnung kann zusätzlich zu der vertikalen Düsenanordnung verwendet werden.

Falls die horizontale Düsenanordnung zum besseren Durchmischen des Fermentationsstoffes rotieren soll, muß die vertikale Düsenanordnung nach oben gefahren werden oder die vertikalen Leitungsrohre durch kürzere Leitungsrohre ersetzt werden.

Überraschenderweise wurde nun gefunden, daß in einem Bioreaktor durch Druckgaspulse eine hinreichende Durchmischung eines festen bzw. wasserunlöslichen Fermentationsstoffes gegeben ist.

Weitere vorteilhafte Ausbildungen des Bioreaktors sind den weiteren Unteransprüchen zu entnehmen.

Die vorliegende Erfindung betrifft weiterhin ein Verfahren gemäß Anspruch 18.

Die Erfindung wird nachfolgend anhand der Figuren und Ausführungsbeispiele näher beschrieben. Dabei zeigt

Fig. 1 einen Bioreaktor mit einem Druckbehälter für bioreaktive Stoffe und für Druckluft,

Fig. 2 eine Stirnansicht des Bioreaktors,

Fig. 3 eine Seitenansicht des Bioreaktors,

Fig. 4 einen Schnitt Fermentationsbehälter des Bioreaktors,

Fig. 5 einen Schnitt entlang der Linie V-V in Fig. 4,

Fig. 6 eine Medienmisch- und Druckluftzuleitungsanordnung für den Bioreaktor,

Fig. 7 den Reaktionverlauf des in Beispiel 1 beschriebenen Fermentationsansatzes.

Der in Fig. 1 gezeigte Bioreaktor zur Fermentierung fester Stoffe und zur Durchführung eines nachfolgend näher beschriebenen Fermentationsverfahrens weist einen Fermentationsbehälter 2 auf, der mit einem Druckdeckel 8 druckdicht verschließbar ist.

Der Fermentationsbehälter 2 ist mit mindestens einer Düsenanordnung 10,20 versehen, die über einen Druckbehälter 44, über eine Druckgasleitung 3 für eine vertikale Düsenanordnung 10 bzw. über eine Druckgasleitung 4 für eine horizontale Düsenanordnung 20 mit Druckluft 48 versorgt wird.

Der Druckbehälter 44 enthält zusätzlich einen bioreaktiven flüssigen Stoff 50, der über ein Absperrventil 7 und eine Druckleitung 5 der horizontalen Düsenanordnung 20 und/oder eine Druckleitung 9 der vertikalen Düsenanordnung 10 zugeführt werden kann.

Die vertikale Düsenanordnung 10 und/oder die horizontale Düsenanordnung 20 kann demzufolge auch als Zugabeeinrichtung für bioreaktive Stoffe alternativ zur Druckgasbeaufschlagung verwendet werden.

Am Boden des Druckbehälters 44 befindet sich eine Ablaufleitung 11 mit einem Absperrventil 12. Am oberen Ende des Druckbehälters 44 ist eine Zuführleitung 13 für die Zufuhr bioreaktiver Stoffe 50 sowie ein Absperrventil 15 angeordnet.

Das Druckgas 48, z.B. Druckluft, wird über eine Zuführleitung 17 und ein Absperrventil 18 zugeführt.

Seitlich neben dem Druckbehälter 44 ist ein Steigrohr 19 angeordnet.

Der Fermentationsbehälter 2 weist desweiteren eine Druckausgleichseinrichtung 21 mit einem Absperrventil auf. Am Boden des Fermentationsbehälters 2 ist unterhalb eines konischen Bodenabschnitts 32 eine Ablaufrinne 36 vorgesehen, die mit einem Maschennetz 38 abgedeckt ist, so daß in dem Fermentationsbehälter 2 enthaltene Flüssigkeit vor ihrem Ablauf in die Ablaufrinne 36 grob gefiltert wird. Der Boden der Ab-

Ablaufrinne 36 verläuft schräg zur Horizontalen, wobei an der Stirnseite 51 des Fermentationsbehälters an der tiefsten Stelle der Ablaufrinne 36 ein Ablaufventil 40 vorgesehen ist.

An der Stirnseite 51 des Fermentationsbehälters 2 befindet sich eine abnehmbare Klappe 53, um den Innenraum und das Maschennetz 38 reinigen zu können, ohne die den Reaktorraum 49 abschließende Deckplatte öffnen zu müssen. An der Ablaufrinne 36 sind gegenüberliegend zwei Fenster 41 angebracht, die es ermöglichen mit einem optischen Sensor die optische Dichte des fermentierten Stoffes zu bestimmen (Fig. 3). Zusätzlich an den Seitenwänden angebrachte Fenster 62,64 ermöglichen eine visuelle Kontrolle der Fermentationsbedingungen, sie sind jedoch nicht obligatorisch. An einer Seite des Fermentationsbehälters 2 ist eineabdichtbare Einrichtung 66 für regeltechnische Elektroden (z. B. ph, O₂-Partialdruck, Leitfähigkeit, Ionenspezifität, usw.) sowie eine Druckausgleichseinrichtung 21 für den kontrollierten Ablaß von Luft oder während der Fermentation entstehender Gase aus dem Fermentationsbehälter 2 angebracht.

Alle mit Medium oder Gasen in Kontakt kommenden Komponenten sind unabhängig voneinander autoklavierbar.

Wie aus den Fign. 2 und 3 ersichtlich, wird der Fermentationsbehälter 2 von einem Gestell 6 gehalten. Das Gestell 6 nimmt auch zwei Spindeln 22 auf, mit deren Hilfe der Druckdeckel 8 des Fermentationsbehälters 2 auf diesen herabgelassen oder angehoben werden kann. Der Druckdeckel 8 bildet zugleich die vertikale Düsenanordnung, indem über den Druckdeckel 8 die Zufuhr von Druckgas oder bioreaktiven Stoffen zu den vertikal von dem Druckdeckel 8 abstehenden vertikalen Leitungsrohren 14 erfolgt. Die vertikalen Leitungsrohre 14 können unterschiedlich lang sein, wobei die Spitzen der Leitungsrohre 14 mit den Düsen 16 sich bei geschlossenem Druckdeckel 8 im Bereich des Boden des Fermentationsbehälters befinden. In der geschlossenen Stellung des Druckdeckels kann der Fermentationsbehälter 2 druckdicht abgeschlossen werden.

Die Spindeln 22 werden mit Hilfe von an der Oberseite des Gestells 6 angeordneten Handkurbeln 27 betätigt.

Eine hohle Druckplatte dient als Druckdeckel des Bioreaktors 1 und ist eine von zwei Möglichkeiten, den Bioreaktorraum im Fermentationsbehälter 2 zu belüften oder mit Medien zu versorgen. Sie kann vertikal von Schienen geführt sein und verschließt den Bioreaktor 1 bei Betrieb hermetisch. Wenn der Bioreaktor 1 mit dem umzusetzenden Substrat beschickt werden soll, wird der Druckdeckel 8 hydraulisch, pneumatisch oder mechanisch nach oben gefahren.

An der Oberseite hat der Druckdeckel 8 einen manuell oder elektronisch steuerbaren Anschluß für die Zufuhr von Druckluft (o. definierten Gasen). Optional kann der Anschluß auch für die Zufuhr von flüssigen definierten Medien, z. B. benötigte Co-Substrate, Vitamine, Mineralstoffe, Puffer oder Antibiotika genutzt werden. Die Luft trifft in dem Druckdeckel 8 zunächst auf eine Prallplatte 45. An der Unterseite des Druckdeckels 8 sind auswechselbare Leitungsrohre 14 mit Düsen 16 in Gewinde eingeschraubt. Baut sich ein Druck in dem Druckdeckel 8 auf, strömt die Luft kontinuierlich durch an den Spitzen der Leitungsrohre 14 befindliche Düsen 16 in den Reaktorraum 49 des Fermentationsbehälters 2 und belüftet diesen gleichmäßig. Neben der milden Durchmischung des Reaktorraums durch den kontinuierlichen Luftstrom, kann optional durch in definierten Intervallen gegebene starke Druckluftpulse eine deutliche Durchmischung des Reaktorraums erreicht werden.

Durch die unterschiedliche Länge der auswechselbaren, in den Druckdeckel 8 einschraubbaren Leitungsrohre 14 ist es möglich, den Reaktorraum 49 gezielt zu belüften. Durch bis zum Boden des Fermentationsbehälters 2 reichende Düsen 16 kann ein homogener, aerober Reaktionsraum geschaffen werden. Bei der Wahl kürzerer Düsen wird ein definierter Raum mit geringem Sauerstoff-Partialdruck erzeugt. Der Bioreaktor 1 kann entweder ohne Begasung (in diesem Fall können die Gewinde des Druckdeckels 8 durch Blindstopfen geschlossen werden) oder durch Zufuhr von definierten O₂-freien Gasen auch obligat anaerob gefahren werden. In diesem Fall sollten die möglicherweise zugebenden Medien vor Zugabe entgast werden.

Optional können flüssige Medien durch diese Düsen 16 auch aus dem Druck- oder Mischbehälter 44,46 in den Bioreaktor 1 eingelassen werden. Falls erforderlich, kann die Belüftung in diesem Fall durch die horizontal den Reaktorraum 49 durchziehende Düsenanordnung 20 erfolgen.

Die Fig. 4 und 5 zeigen die in dem Fermentationsbehälter 2 angeordnete horizontale Düsenanordnung 20, die ebenfalls entweder mit Druckluft 48 oder mit einem flüssigen bioreaktiven Stoff 50 beaufschlagt werden kann. Die horizontale Düsenanordnung 20 kann, wie aus Fig. 5 ersichtlich, einseitig in einer Stirnwand des Fermentationsbehälters 2 oder beidseitig in den Stirnwänden gelagert sein. Desweiteren kann vorgesehen sein, daß die horizontale Düsenanordnung in unterschiedlichen Höhen an der Stirnwand gelagert wird.

Wie aus Fig. 5 ersichtlich, besteht die horizontale Düsenanordnung 20 aus drei sich horizontal und parallel zueinander durch den Fermentationsbehälter 2 erstreckenden Leitungsrohren 24, die jeweils eine Vielzahl von Düsenöffnungen 28 aufweisen. Die drei Leitungsrohre 24 sind untereinander verbunden. Wie aus Fig. 5 ersichtlich, kann die horizontale Düsenanordnung 20 um eine horizontale Drehachse gedreht werden, um eine gute Durchmischung des Behälterinhaltes zu erreichen. Bei Rotation der horizontalen Düsenanordnung 20 ist die vertikale Düsenanordnung 10 soweit vertikal nach oben herausgefahren, daß keine Kollision zwischen den Leitungsrohren 14 und den Leitungsrohren 24 auftreten kann. Alternativ kann die horizontale Düsenanordnung 20 an der tiefstmöglichen Stelle im Fermentationsbehälter 2 angeordnet sein, wobei verkürzte Leitungsrohre 14 in den Druckdeckel 8 eingeschraubt sind.

Selbstverständlich ist es möglich, die vertikale Düsenanordnung 10 mit Druckgas 48 und die horizontale Düsenanordnung 20 mit dem bioreaktiven Stoff 50 und umgekehrt zu beaufschlagen.

Die zweite Düsenanordnung 20 durchzieht den Reaktorraum 49 horizontal. Sie kann in unterschiedlichen Höhen eingesetzt werden und ist um ihre Achse drehbar gelagert.

Diese Düsenanordnung wird zur Versorgung des Bioreaktors mit flüssigen definierten Medien, z. B. Wasser, benötigte Co-substrate, Vitamine, Mineralstoffe, Puffer oder Antibiotika genutzt, kann aber optional zur Belüftung und Durchmischung des Bioreaktors 1 eingesetzt werden. Bei der Fermentation von flüssigen oder wasserlöslichen Substanzen kann die horizontale Düsenanordnung durch einen an der Außenseite des Bioreaktors 1 befindlichen Motor rotiert werden und so zu einer deutlichen Durchmischung des Bioreaktorinhalts beitragen. In diesem Fall werden kürzere vertikale Leitungsrohre

14 eingesetzt und die horizontale Düsenanordnung 20 in deren unterster Arretierung eingesetzt.

Die Durchmischung des Bioreaktorinhalts und die Versorgung des Bioreaktors 1 sowohl mit Luftsauerstoff oder definierten Gasen als auch mit Medium wird pneumatisch durch Druckluft erreicht. Über den Weg eines Druckbehälters 44, der in diesem Fall auch als Medienvorratstank verwendet wird, gelangt die Luft in den Druckdeckel 8 und von da aus in die vertikalen bzw. optional in die horizontalen Düsen 16,28. Zwischen dem Druckbehälter 44 und dem Druckdeckel 8 befindet sich ein Absperrventil 26. Wird das Absperrventil 26 geschlossen und der Absperrventil 7 am Boden des Druckbehälters 44 geöffnet, wird Medium durch die Druckluft über das horizontale und optional auch über die vertikale Düsenanordnung 10,20 in den Bioreaktor 1 gedrückt.

Fig. 6 zeigt ein Ausführungsbeispiel bei dem anstelle des Druckbehälters 44 ein Mischbehälter 46 an den Bioreaktor 1 angeschlossen ist. Mit dem Mischbehälter 46 sind mehrere Druckbehälter 52,54,56,58,60 verbunden, die unterschiedliche flüssige bioreaktive Stoffe, sowie Druckgas, z.B. Druckluft, enthalten. Diese unterschiedlichen Stoffe können dem Mischbehälter 46 zugeführt werden und in diesem in einem gewünschten Verhältnis gemischt werden. Über die Druckluftzuleitung 17 und das Absperrventil 18 gelangt Druckluft zu einer Verteileinrichtung 23, die die Druckluft 48 auf alle angeschlossenen Druckbehälter 52,54,56,58 und 60 sowie auf den Mischbehälter 46 verteilt. Die Druckluftzuleitungen 25 für die einzelnen Druckbehälter weisen jeweils ein Absperrventil 26 auf. Von der Verteileinrichtung 23 zweigt auch die Druckluftleitung 3 für den Fermentationsbehälter 2 ab.

Um unterschiedliche Medien gezielt in den vorgestellten Bioreaktor 1 einbringen zu können, wird das pneumatische System aus mehreren Druckbehältern 52,54,56,58,60 unterschiedlichen Volumens genutzt. Fig. 6 zeigt eine Anwendung mit fünf austauschbaren und getrennt voneinander autoklavierbaren Druckbehältern (z. B. für Medium, zwei Puffer, Spurenelementlösung und Antibiotikalösung), bei denen graduierte Steigrohre 19 die jeweiligen Füllstände der Druckbehälter 52,54,56,58,60 anzeigen. Die Druckluft gelangt über eine Verteileinrichtung 23 in das pneumatische System. Ein Teil kann bei Bedarf zur Belüftung des Bioreaktors 1 direkt in die vertikale und/oder horizontale Düsenanordnung 10,20 geleitet werden. Die abhängig voneinander regulierba-

ren Druckbehälter sind mit der Verteileinrichtung 23 verbunden. Die jeweiligen Medien aus den einzelnen Druckbehältern werden in einen Mischbehälter 46 gegeben. Ist der Mischbehälter mit den unterschiedlichen Medien gefüllt, wird der Druckausgleich über eine Druckausgleicheinrichtung 47 ermöglicht und durch eine weitere Druckgasleitung 34 der Verteileinrichtung 23 z.B. Druckluft in den Druckbehälterboden gepresst. Dadurch erfolgt die Durchmischung der unterschiedlichen Lösungen. Ist der Mischvorgang beendet, wird der Mischbehälter 46 unter Druckluft gesetzt und das gewünschte Medium in die horizontale und/oder vertikale Düsenanordnung 10,20 eingeleitet.

Jeder Druckbehälter kann mit einem Steigrohr 19 versehen sein. Die Zuführleitungen 29 für die bioreaktiven Stoffe aus den Druckbehältern weisen jeweils ein Absperrventil 30 auf.

Von der Verteileinrichtung 23 zweigt desweiteren eine Druckgasleitung 34 ab, die ein Absperrventil 35 enthält, wobei die Druckgasleitung 34 zu einer Abflußleitung 37 am Boden des Mischbehälters 46 führt, um für den Mischvorgang beispielsweise Druckluft zuzuführen. Die Abflußleitung ist mit einem Absperrventil 39 versehen. Von der Abflußleitung 37 zweigt eine Zuführleitung 42 mit einem Absperrventil 43 ab, über die die gemischten bioreaktiven Stoffe 50 dem Bioreaktor 1 zuführbar sind.

Der Mischbehälter 46 ist desweiteren mit einer Druckausgleicheinrichtung 47 für den Druckausgleich beim Mischvorgang versehen.

Das Druckgas kann der vertikalen und/oder horizontalen Düsenanordnung 10,20 auch in pulsierender Form zugeführt werden.

Die vorliegende Erfindung betrifft ebenfalls ein Verfahren zur aeroben Fermentierung fester Stoffe, wobei das diese festen Stoffe enthaltende Reaktionsmedium durch von oben zugeführtes Druckgas 48 durchmischt wird. "Feste Stoffe" im Sinne des erfindungsgemäßen Verfahrens sind dabei vorzugsweise Kohle, Holz und belastete Böden. Das Verfahren ist insbesondere zur Fermentierung von Braunkohle geeignet.

Braunkohle besteht aus drei durch ihre unterschiedliche Löslichkeit in Abhängigkeit vom pH-Wert definierte Faktoren:

1. Huminsäuren sind durch 0,1 N NaOH-Lösung extrahierbar;
2. Fulvinsäuren sind auch im sauren Milieu löslich;
3. als Matrix wird der unlösliche Rückstand bezeichnet.

Mikrobiell solubilisierte Kohle kann als Kohlenstoff- und Energiequelle für Bakterien verwendet werden, die in der Lage sind, aus dem chemisch heterogenen Massenprodukt Kohle einen chemisch charakterisierten Stoff wie z. B. Polyhydroxyfettssäuren für die Synthese biologisch abbaubarer Kunststoffe zu produzieren (Steinbüchel, A., Füchtenbusch, B. PHA from coal, Proceedings ICCS 97, S. 1673 - 1676 (1997)). der aliphatische, mikrobiell nicht zu verflüssigende Rest, der einen geringeren Wasser- und Ascheanteil und somit einen höheren spezifischen Brennwert aufweist, kann zum einen für die direkte thermische Nutzung (Köpsel, R. et al., Grundlagenforschung für die sanfte Kohleveredelung: Biokonversion von Braunkohlen, Freiberger Forschungshefte, S. 159 - 166 (1998)) zum anderen für weitere anschließende Fermentationsprozesse durch aliphatenabbauende Hefen genutzt werden (Hölker, U. et al., Potential relevance of yeasts for the microbial processing of low-rank- coal. Proceedings of the 16th SMYTE, Slowakei, S. 16 (1998); Folia Microbiol 44, S. 226 - 227 (1999)).

Besonders bevorzugt wird das erfindungsgemäße Verfahren in dem vorstehend beschriebenen Bioreaktor durchgeführt.

Die vorliegende Erfindung wird anhand des nachfolgenden Beispiels näher erläutert.

Beispiel 1

Fermentation von Braunkohle

Der Bioreaktor wurde mit 2500 g Braunkohle (Bergheim Lithotyp A, Partikelgröße 2 - 10 mm, Wassergehalt der Kohle ca. 50 %) als umzusetzender Feststoff in 10 l Wasser beschickt. Als kohlesolubilisierender aerober Pilz wurde *Trichoderma atroviride* eingesetzt (Hölker, U. et al., A system to analyse the complex physiological states of coal solubilizing fungi, Fuel Processing Technol., 52 65 - 71 (1997)). 50 g Glutamat wurden zugegeben, um die Induktion kohleverflüssigender Enzyme einzuleiten (Hölker, U. et al., Growth substrates control the ability of *Fusarium oxysporum* to solubilize low-rank coal, Appl. Microbiol. Biotechnol. 44 351 - 255 (1995)). Der Anfangs-pH betrug 5,8, um dem

Pilz gegenüber in der Kohle befindlichen Bakterien zunächst einen Wachstumsvorteil zu geben. Das Medienzulaufsystem wurde auf die obere Arretierung gestellt. Der Druckdeckel 8 wurde mit bis zum Boden des Reaktorraums 49 reichenden Leitungsröhren 14 mit Düsen 16 bestückt. Der zur Belüftung ausreichende kontinuierliche Luftdruck betrug 0,4 bar. Täglich wurde der Luftdruck einmal für eine Minute auf 3 bar erhöht, um den Reaktorinhalt zu durchmischen.

In einem semikontinuierlichen Ansatz wurden in Abständen von 24 Stunden über das Medienzulaufsystem 800 ml Wasser zugegeben und eine gleiche Menge Reaktorinhalt am Ablaufsystem entnommen. In dieser Suspension wurde die optische Dichte, der pH-Wert, der Humin- und Fulvinsäureanteil bestimmt und auf bakterielle Kontamination überprüft. Erreichte der pH-Wert 7,3 wurde er über das Medienzulaufsystem auf 7,0 zurücktitriert (Fig. 7, Pfeile 1 - 5).

Die in diesem Fermentationsansatz angestrebte Ausbeute an solubilisierter Kohle betrug 3 mg Trockengewicht pro ml Suspension bei pH 7 pro Tag und sollte kontinuierlich über einen Zeitraum von 30 Tagen hinweg konstant gehalten werden. Dies entspricht einer angestrebten Ausbeute von ca. 2 g Solubilisationsprodukte pro Tag. Bei einem Anstieg über 3,3 mg Trockenmasse pro ml wurde durch Wasserzugabe über das Medienzulaufsystem der Reaktorinhalt verdünnt und wieder auf die gewünschte Konzentration eingestellt (Fig. 7, Pfeile 6 - 10).

Nach einer Fermentationszeit von 12 Tagen wurde die angestrebte Konzentration solubilisierter Kohle erreicht und in einem Zeitraum von weiteren 28 Tagen wurden 71 g Solubilisierungsprodukte im vorgeschlagenen Bioreaktor produziert.

Patentansprüche

1. Bioreaktor zur Fermentierung fester Substrate mit einem Fermentationsbehälter (2), einer Zugabeeinrichtung für bioreaktive Stoffe und einer Düsenanordnung in dem Fermentationsbehälter (2), dadurch gekennzeichnet, daß eine Düsenanordnung (10,20) aus einer Vielzahl von parallel in den Reaktionsraum (49) des Fermentationsbehälters (2) hineinragenden und mit Düsen (16,28) versehenen Leitungsrohren (14,24) in dem Fermentationsbehälter (2) angeordnet ist.
2. Bioreaktor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß eine erste, sich vertikal erstreckende Düsenanordnung (10) in den Reaktionsraum (49) des Fermentationsbehälters (2) einfahrbar ist.
3. Bioreaktor nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß eine zweite horizontale Düsenanordnung (20) aus mindestens zwei sich horizontal und zueinander parallel durch den Reaktionsraum (49) erstreckenden, miteinander verbundenen Leitungsrohren (24) besteht, die jeweils eine Vielzahl von Düsenöffnungen (28) aufweisen.
4. Bioreaktor nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß die horizontale Düsenanordnung (20) um eine horizontale Drehachse drehbar ist.
5. Bioreaktor nach Ansprüchen 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß der Fermentationsbehälter (2) einen im Querschnitt sich verjüngenden Bodenabschnitt (32) aufweist.
6. Bioreaktor nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß der konisch gestaltete Bodenabschnitt (32) in einer zur Horizontalen schräg verlaufenden Ablaufrinne (36) mündet, die an der tiefsten Stelle ein Ablaufventil (40) aufweist.
7. Bioreaktor nach Ansprüchen 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß die mindestens eine Düsenanordnung (10,20) Druckgas (48) aus einem Druckbehälter (44,46) erhält.

-
8. Bioreaktor nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß in dem Druckbehälter (44,46) außer dem Druckgas (48) ein bioreaktiver flüssiger Stoff (50) enthalten ist.
 9. Bioreaktor nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß die mindestens eine Düsenanordnung (10,20) alternativ Druckluft (48) oder den flüssigen bioreaktiven Stoff (50) aus dem Druckbehälter (44,46) erhält.
 10. Bioreaktor nach Ansprüchen 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß die mindestens eine Düsenanordnung (10,20) mit pulsierender Druckluft (48) beaufschlagbar ist.
 11. Bioreaktor nach Ansprüchen 4 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß die erste und/oder die zweite Düsenanordnung (10,20) höhenverstellbar in dem Fermentationsbehälter (2) angeordnet ist.
 12. Bioreaktor nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß mehrere mit Druckluft (48) beaufschlagte und mit einem Mischbehälter (46) verbundene Druckbehälter (52,54,56,58,60) vorgesehen sind, die unterschiedliche flüssige bioreaktive Stoffe enthalten.
 13. Bioreaktor nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, daß der Mischbehälter (46) eine Druckausgleichseinrichtung (47) aufweist.
 14. Bioreaktor nach Ansprüchen 12 und 13, dadurch gekennzeichnet, daß die Druckbehälter (52,54,56,58,60) austauschbar und getrennt voneinander autoklavierbar sind.
 15. Bioreaktor nach Ansprüchen 6 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß die Ablaufrinne (36) mit einem Maschennetz (38) abgedeckt ist.
 16. Bioreaktor nach einem der Ansprüche 1 bis 15, dadurch gekennzeichnet, daß ein Druckdeckel (8) des Fermentationsbehälters (2) die erste Düsenanordnung (10) aufnimmt, deren Leitungsrohre (24) vertikal von dem Druckdeckel (8) in den Reaktionsraum (49) hineinragen.

17. Bioreaktor nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, daß die vertikalen Leitungsrohre (14) der ersten Düsenanordnung (10) auswechselbar in dem Druckdeckel (8) angeordnet sind.

18. Verfahren zur aeroben Fermentierung fester Stoffe, wobei das diese festen Stoffe enthaltende Reaktionsmedium durch von oben zugeführtes Druckgas (48) durchmischt wird.

19. Verfahren nach Anspruch 18, wobei das Durchmischen durch einen kontinuierlichen Druckgasstrom oder durch Druckgaspulse erfolgt.

20. Verfahren nach Anspruch 18 oder 19, wobei die festen Stoffe ausgewählt sind aus Kohle, Holz und belasteten Böden.

21. Verfahren nach einem der Ansprüche 18 bis 20, wobei die Reaktion in einem wie in Ansprüchen 1 bis 17 definierten Bioreaktor (1) erfolgt.



Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft einen Bioreaktor zur Fermentierung fester Substrate mit einem Fermentationsbehälter (2), einer Zugabeeinrichtung für bioreaktive Stoffe und einer Düsenanordnung in dem Fermentationsbehälter (2), dadurch gekennzeichnet, daß eine Düsenanordnung (10,20) aus einer Vielzahl von parallel in den Reaktionsraum (49) des Fermentationsbehälters (2) hineinragenden und mit Düsen (16,28) versehenen Leitungsrohren (14,24) in dem Fermentationsbehälter (2) angeordnet ist. Die Erfindung betrifft weiterhin ein Verfahren zur aeroben Fermentierung fester Stoffe, wobei das diese festen Stoffe enthaltende Reaktionsmedium durch von oben zugeführtes Druckgas (48) durchmischt wird.

FIG.1

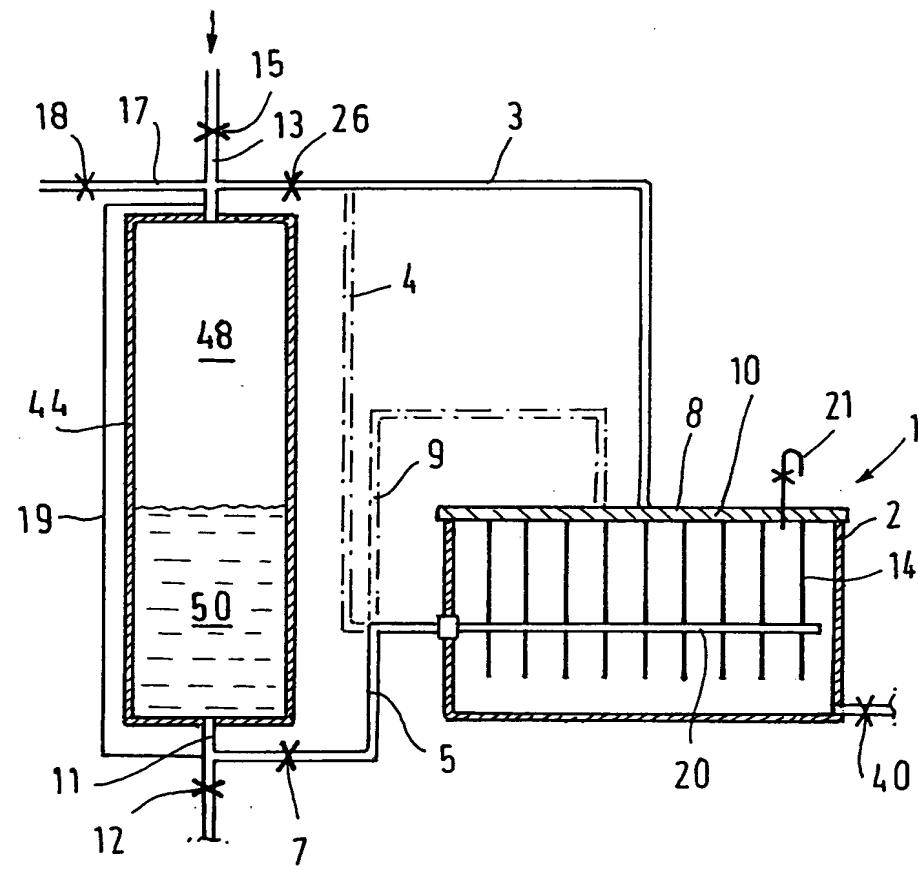


FIG.2

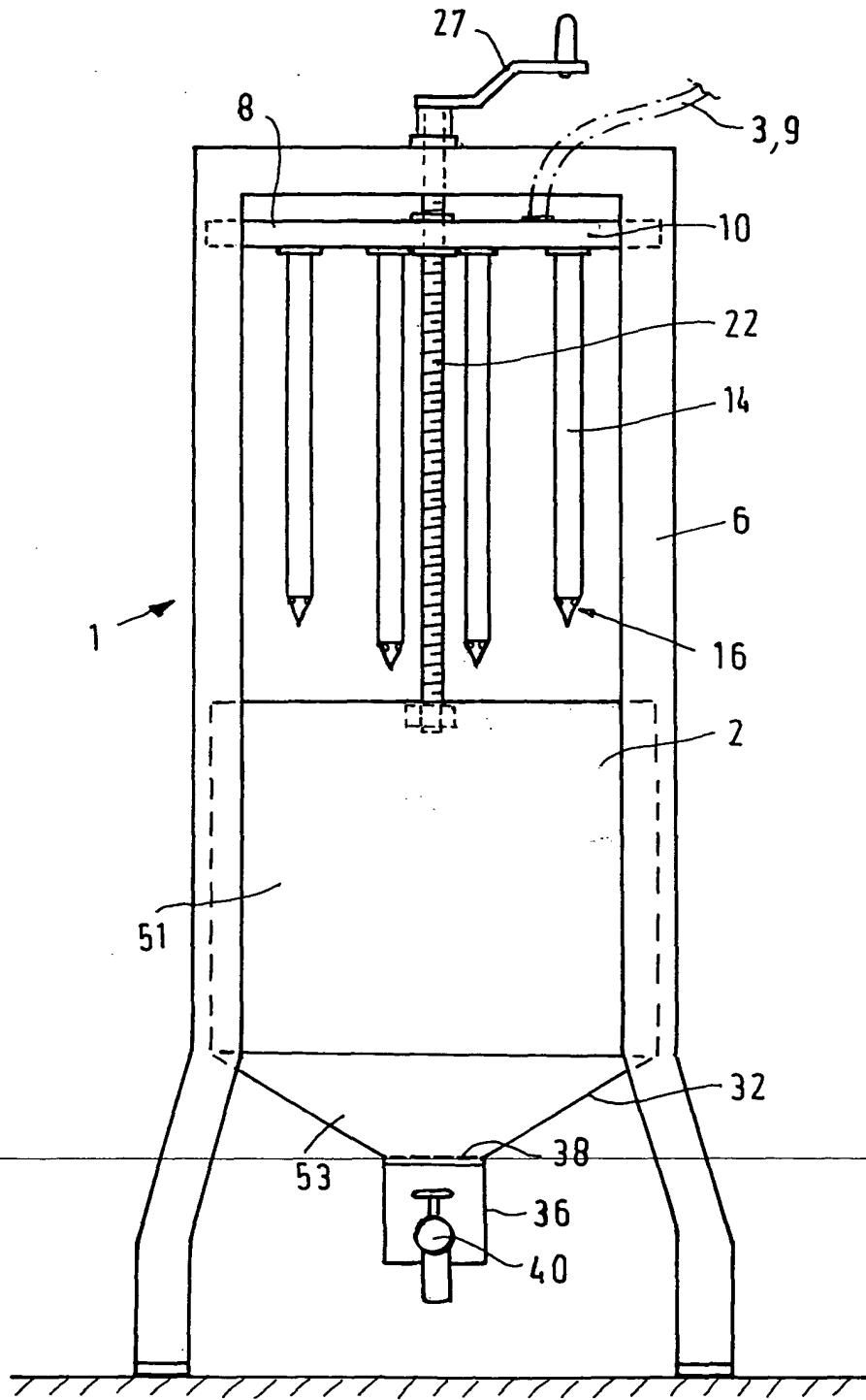
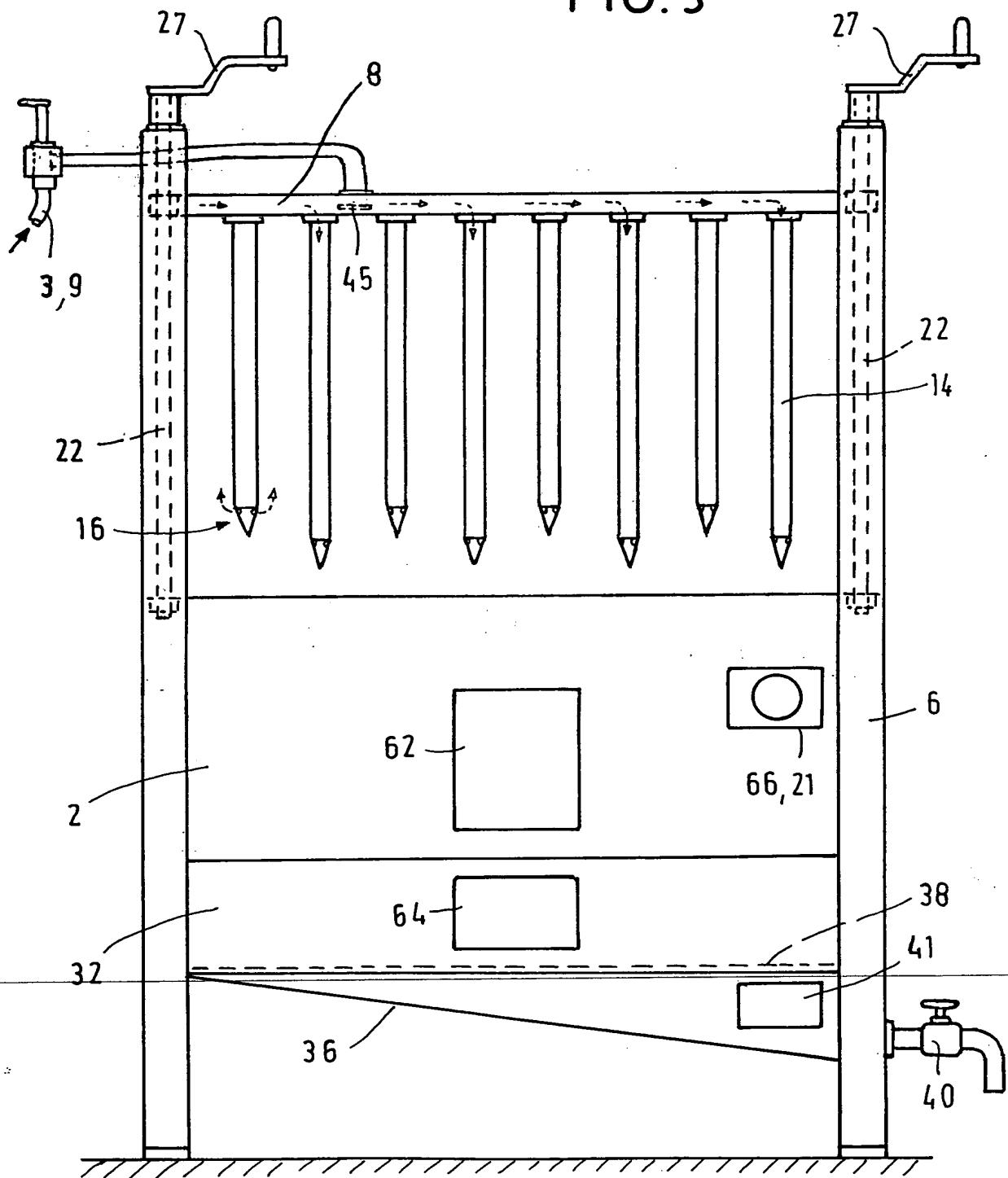


FIG. 3



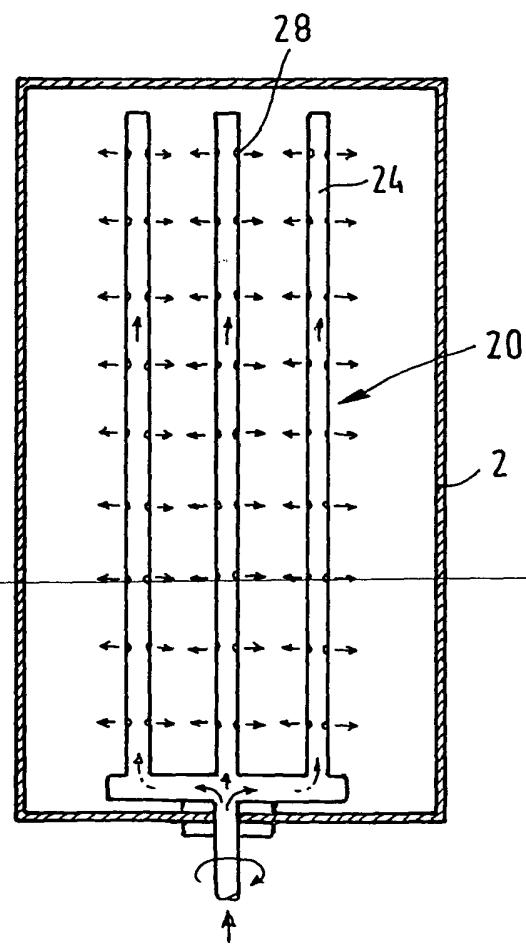
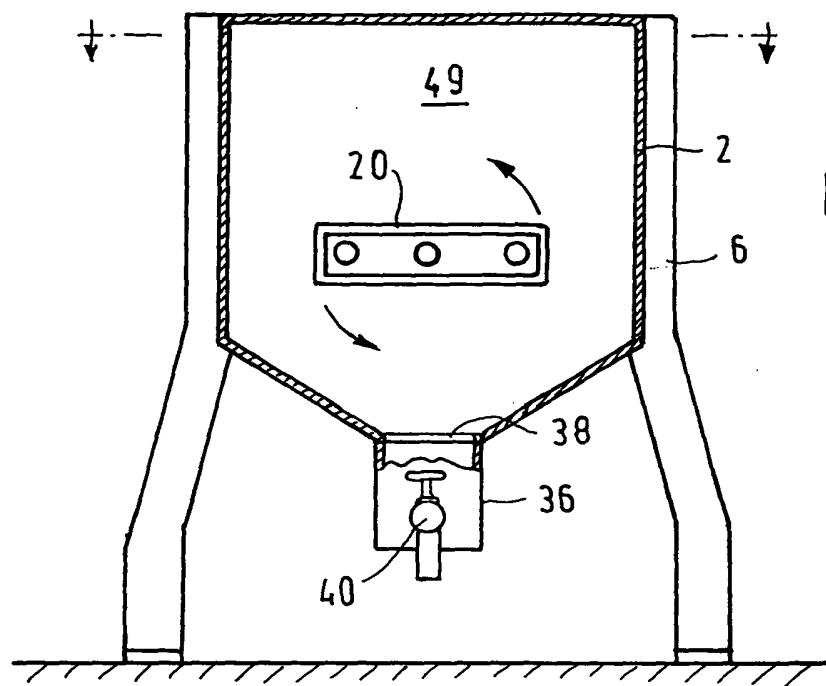


FIG. 6

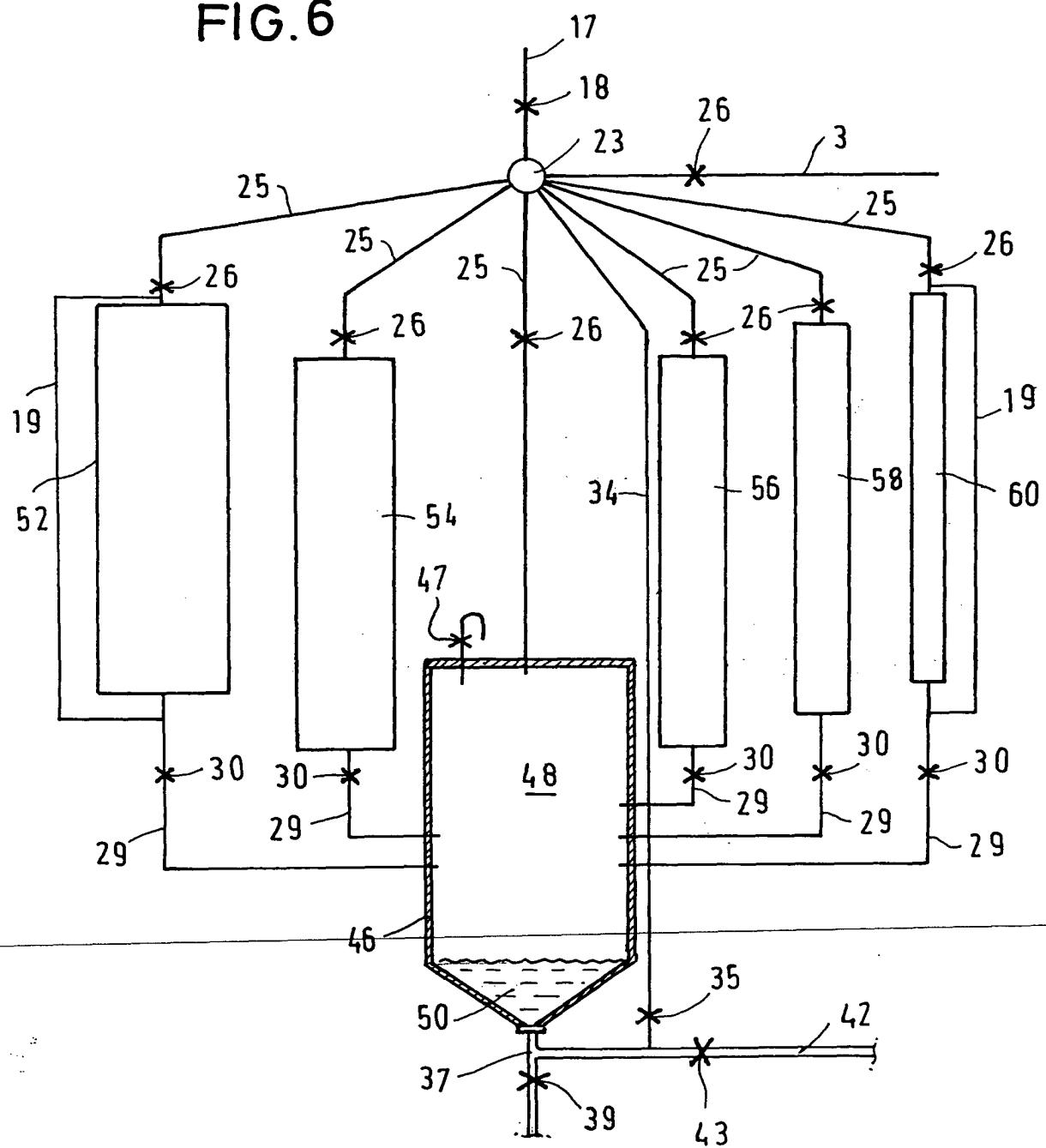


FIG. 7

